

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

### **Métodos de preservação da fertilidade em doentes submetidas a terapêuticas gonadotóxicas**

Ana Margarida Jorge dos Santos



# **TRABALHO FINAL MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

## **Métodos de preservação da fertilidade em doentes submetidas a terapêuticas gonadotóxicas**

Ana Margarida Jorge dos Santos

**Orientado por:**

Dr. José Joaquim Domingues Nunes

---

**Junho 2017**

## **Resumo**

O número de novos casos de cancro tem vindo a aumentar gradualmente por todo o mundo, correspondendo em 2012 a 14,1 milhões. No entanto, graças à evolução dos meios terapêuticos e de diagnóstico, houve uma redução significativa da mortalidade e morbilidade destes pacientes, conduzindo por um lado a um aumento da esperança e qualidade de vida, mas por outro, pela sua toxicidade ovárica, a uma diminuição do potencial reprodutivo. Neste sentido várias técnicas de preservação da fertilidade têm vindo a ser criadas e aperfeiçoadas ao longo dos anos e recomendadas pela American Society of Clinical oncology (ASCO) e pela Sociedade Portuguesa de Oncologia (SPO), de modo a preservar o potencial reprodutivo dessas pacientes.

Este trabalho tem como objectivo a revisão bibliográfica dos efeitos gonadotóxicos das várias terapêuticas anti-neoplásicas, dos métodos de preservação da fertilidade existentes actualmente e de outros ainda em estudo, e ainda a abordagem de alguns dilemas éticos associados a este tema.

**Palavras-chave:** *preservação da fertilidade, criopreservação oócitos, embriões, tecido ovárico.*

## **Abstract**

The number of new cases of cancer has been gradually increased worldwide, corresponding in 2012 to 14,1 million. Nevertheless, because of the therapeutic and diagnostic evolution, a great improvement on the patient's mortality and morbidity occurred, leading on one hand to an increase in life expectancy and quality, but on the other, due to its toxicity to the ovary, to a decrease in reproductive potential. Regarding this matter, several techniques have been created and perfected over the years and recommended by the American Society of Clinical Oncology (ASCO) and the Sociedade Portuguesa de Oncologia (SPO), in order to preserve the reproductive potential of these patients.

This essay's aim is to do a bibliographical review of the gonadotoxic effects of various anti-neoplastic therapies, investigate the existing methods of fertility preservation and other methods still under study, and approach some of the ethical dilemmas associated with this topic.

**Keywords:** *fertility preservation, oocyte cryopreservation, embryo, ovarian tissue.*

# Índice

## Resumo/Abstract

<b>I. Introdução</b>	5
<b>II. Metodologia e Resultados</b>	8
<b>III. Discussão</b>	10
3.1. Estratégias para a Preservação da Fertilidade	10
3.1.1. Indicações	10
3.1.2. Técnicas	10
3.1.2.1. Ooforopexia	11
3.1.2.2. Agentes Supressores do Ovário	12
3.1.2.3. Criopreservação de Embriões	13
3.1.2.4. Criopreservação de Oócitos Maduros	14
3.1.2.5. Criopreservação e Transplante de Tecido Ovário	15
3.1.2.6. Outras Técnicas	16
3.1.2.6.A. Maturação de Oócitos <i>in vitro</i>	16
3.1.2.6.B. Transplante Completo de Ovário	17
3.1.2.6.C. Administração de Quimioterapia por Nanopartículas	17
3.2. Desafios Éticos	18
<b>IV. Conclusão</b>	20
<b>Agradecimentos</b>	21
<b>Bibliografia</b>	22
<b>Anexos:</b>	
Anexo 1: Categorização de risco de amenorreia em mulheres tratadas com anti-neoplásicos e/ou radioterapia	29
Anexo 2: Algoritmo representativo das opções de preservação da fertilidade feminina	32

## Índice de Siglas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AFC – Anthral follicle count (contagem de folículos antrais)

AMH – Anti-Müllerian hormone (hormona anti-mülleriana)

ASCO – American Society of Clinical Oncology

BRCA – Breast Cancer Susceptibility Gene

EMA – European Medicines Agency

ER – Estrogen-receptor (receptor de estrogénios)

FDA – Food and Drug Administration

FIV – Fertilização *in vitro*

FSH – Hormona folículo-estimulante

GnRH – Gonadotropin-releasing hormone (Hormona libertadora de gonadotrofinas)

Gy – Gray

ICSI – Intracytoplasmatic Sperm Injection (Microinjecção citoplasmática de espermatozóides)

LH – Hormona luteínica

PR – Progesterone receptors (receptores de progesterona)

SPO – Sociedade Portuguesa de Oncologia

## I. Introdução

Quando nasce, a mulher carrega já consigo todo o seu potencial reprodutivo. Desde o período fetal, por volta das 20 semanas de gestação, a mulher possui nos seus ovários cerca de 7 milhões de folículos primordiais, que vão progressivamente sofrendo atresia, sendo apenas 1 a 2 milhões na altura do nascimento e cerca de 300.000 na puberdade. A partir desta altura, alguns folículos são recrutados para crescer sob a influência de hormonas secretadas pelo eixo hipotálamo-hipófise, e um único é seleccionado para completar a maturação e ovular, enquanto os restantes sofrem atresia a uma velocidade média de 1000 folículos por mês, até se atingir a menopausa por volta dos 45-55 anos, altura em que cessam os folículos disponíveis no ovário <sup>[1, 2]</sup>.

Em situações fisiológicas, a depleção folicular é gradual e apenas completa na altura da menopausa, no entanto, esta pode ser acelerada pelas terapêuticas usadas no tratamento de diversas neoplasias malignas, como a quimioterapia ou a radioterapia <sup>[3]</sup>. Por um lado estas modalidades de tratamento têm apresentado resultados positivos na sobrevivência das mulheres, mas por outro, trazem também preocupações quanto aos seus efeitos ao nível do potencial fértil da paciente.

O impacto da quimioterapia no potencial reprodutivo feminino depende de vários factores, como: (1) a idade da paciente na altura do tratamento, já que mulheres mais velhas têm naturalmente uma menor reserva folicular; (2) o agente quimioterapêutico utilizado, dado que os agentes alquilantes (ex: Ciclofosfamida), estão associados a uma perda da reserva folicular mais acelerada por maior toxicidade ovárica <sup>[4, 5]</sup>, embora outras substâncias tenham sido descritas como passíveis de provocar dano folicular em menor grau, como as antraciclinas (ex: Doxorubicina) ou os agentes de platina (ex: Cisplatina e Carboplatina); (3) por último a dose de fármaco utilizada e a duração do tratamento são importantes, já que esquemas terapêuticos curtos e doses mais baixas de fármaco produzem menos efeitos deletérios no ovário <sup>[3, 6]</sup>.

O mecanismo de acção destes fármacos não está claramente esclarecido, no entanto estima-se que a maior toxicidade seja ao nível das células em divisão, como os folículos em crescimento, essencialmente por dano às células da granulosa. Adicionalmente, estima-se que haja acção tóxica nas células em repouso, por alterações ao nível do ADN, induzindo a sua apoptose <sup>[3]</sup>.

Esta perda de reserva folicular pode ser completa e dar origem a falência ovárica acompanhada de amenorreia, sintomas de privação estrogénica, aumento das gonadotrofinas e baixos níveis de estradiol <sup>[7]</sup>, ou ser incompleta e manifestar-se anos ou

décadas após o tratamento com o aparecimento de menopausa em idade precoce. Neste último caso, as mulheres mantêm potencial reprodutivo, ainda que por tempo mais limitado [3, 6, 7]. Adicionalmente, a toxicidade destes fármacos pode causar: atrofia ovárica, diminuição do peso ovárico, e fibrose do estroma [7].

Os folículos em crescimento produzem hormona anti-mülleriana (AMH), que é uma hormona produzida pelas células da granulosa e que controla o recrutamento de folículos primordiais para iniciar o crescimento. Sendo um dos efeitos da quimioterapia a depleção de folículos em crescimento, a AMH vai sofrer um decréscimo e a hormona folículo-estimulante (FSH) vai aumentar, desencadeando-se um feedback positivo em que são recrutados mais folículos para compensar essa perda, sendo perdidos por efeitos citotóxicos da quimioterapia e contribuindo para a perda de reserva folicular de forma indirecta [6, 8]. Desta forma a reduzida AMH em conjunto com outros indicadores como: o aumento da FSH, reduzida contagem de folículos antrais (AFC) e reduzida inibina B constituem marcadores bioquímicos úteis para a avaliação de lesão ou falência ovárica pós-tratamento [9, 10].

A radioterapia é largamente utilizada para tratamento de diversos tipos de neoplasias e os seus efeitos são igualmente deletérios para os órgãos reprodutores. Estes efeitos estão, à semelhança da quimioterapia, dependentes de factores como a idade da mulher, o tipo, local e trajectória da radiação e ainda a concomitância com a quimioterapia [3, 9, 11, 12].

A dose total de radiação pélvica capaz de aumentar o risco de falência ovária, está estimada em 20 Gy, com doses mais baixas para mulheres de idade igual ou superior a 35 anos, estimados em cerca de 8 Gy [13, 14]. Quando possível, as gónadas são protegidas do campo de irradiação, no entanto quando esta protecção não acontece, o resultado pode ser a atrofia e falência ovárica em cerca de 90% na irradiação corporal total e cerca de 97% na irradiação abdominal [7].

Os efeitos nefastos da radiação não se limitam à falência ovárica. Estes podem também estar associados a lesão uterina com a diminuição de volume, diminuição do fluxo sanguíneo ou lesão endometrial [12], que podem levar a subfertilidade ou complicações obstétricas como o aumento da incidência de abortos espontâneos, partos pré-termo e baixo peso ao nascer [9, 12].

A radiação craniana pode também ter efeitos negativos por mecanismo indirecto, já que interfere com o eixo hipotálamo-hipófise e pode alterar a produção de gonadotrofinas [15, 16].



Epidemiologicamente, é importante referir que em 2012, foram reportados cerca de 14.1 milhões de novos casos de cancro em todo o mundo (cerca de 6.6 milhões no sexo feminino), e cerca de 8.2 milhões de mortes (3.5 milhões mulheres). Em Portugal, a incidência de cancro tem vindo a aumentar gradualmente (entre 2009 e 2010 esse aumento foi na ordem dos 4%) e no ano de 2012 contaram-se cerca de 21.000 novos casos de cancros no sexo feminino e cerca de 9800 mortes <sup>[17,18]</sup>. Uma predição da OMS para 2020 revelou que haverá em Portugal um aumento de 8% em todos os cancros no sexo feminino, e 3% de aumento da incidência em mulheres abaixo dos 65 anos <sup>[18]</sup>.

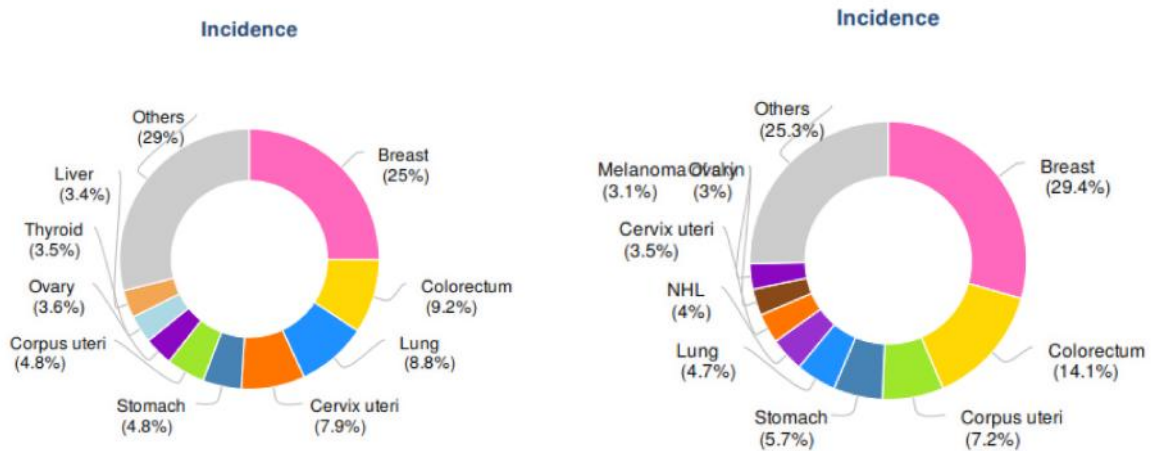


Gráfico.1: Incidência de cancro no sexo feminino no mundo e em Portugal no ano de 2012.

Fonte: IARC, OMS (2012).

Apesar destes números, uma grande parcela dos pacientes diagnosticados com cancro sobrevive, em parte graças ao diagnóstico precoce e ao desenvolvimento de novas terapêuticas anti-neoplásicas<sup>[13]</sup>. Assim tornou-se essencial o estabelecimento de estratégias de forma a possibilitar a estas crianças e mulheres, um futuro em termos reprodutivos.

Nesse sentido, de forma a ver satisfeita a curiosidade que este tema me suscitou, propus-me a pesquisar os meios de preservação da fertilidade feminina existentes actualmente, bem como algumas técnicas ainda em fase experimental e que poderão representar o futuro da oncofertilidade.

## II. Metodologia e Resultados

Foi realizada uma pesquisa com palavras-chave em inglês no motor de busca PubMed e nas revistas médicas: The Lancet, The New England Journal of Medicine e com palavras-chave em português nas revistas: Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa e Revista Portuguesa de Oncologia.

Os critérios de inclusão dos artigos basearam-se na leitura e análise dos títulos e resumos primeiramente, sendo seleccionados artigos escritos em inglês ou português, posteriores ao ano de 1998, referentes a doentes do sexo feminino, em idade fértil, com neoplasia diagnosticada e com critérios para iniciar tratamento anti-neoplásico e que fizessem referência a uso de técnicas de preservação da fertilidade.

Inicialmente foi feita pesquisa em inglês no site PubMed com recurso às palavras-chave *fertility preservation after cancer*, que originou 1036 resultados, dos quais foram seleccionados 37 de acordo com os critérios definidos anteriormente. Após leitura integral foram excluídos 5 por não se adequarem ao tema do trabalho, 4 por estarem escritos em francês, 6 por apresentarem dados já desactualizados, e 2 por apresentarem estudos apenas em modelos animais sendo difícil a extrapolação para o ser humano.

Ao longo do trabalho foi sendo necessária a pesquisa de artigos mais direccionados para determinadas técnicas a fim de complementar a informação anteriormente recolhida, desta forma, adicionando outras palavras-chave à pesquisa anterior como: *ovarian transposition* (encontrados 251 resultados), *GnRH agonists* (6910 resultados), *Embryo cryopreservation* (6937 resultados), *Oocyte cryopreservation* (4036 resultados), *Ovarian tissue cryopreservation* (1300 resultados), *Whole ovarian Transplant* (204 resultados), *in vitro oocyte maturation* (5541 resultados) *nanoparticle chemotherapy* (32054 resultados) foi possível recolher 40 artigos.

Para complementar a pesquisa efectuada inicialmente foi feita revisão literária em revistas específicas como a revista The Lancet usando as mesmas palavras-chave das pesquisas anteriores que resultou em 238 artigos, dos quais foram seleccionados apenas 9 e destes, excluídos 3 por não se adequarem ao tema central do trabalho (outras patologias não oncológicas). Do mesmo modo a pesquisa da revista The New England Journal of Medicine, resultou em 184 resultados, sendo seleccionados no final 4 artigos.

Foi feita pesquisa em Português nas revistas científicas Revista Portuguesa de Oncologia e Acta Obstétrica e Ginecológica portuguesa, com as palavras *preservação fertilidade cancro*, tendo sido recolhidos 4 artigos. Pelas palavras-chave: *doenças oncológicas Portugal*, foi ainda possível aceder a um documento da Direcção Geral de

Saúde “Doenças Oncológicas em Números 2015”, que dava conta dos dados epidemiológicos da patologia oncológica até ao ano de 2015.

Para a revisão literária dos problemas éticos foi feita uma pesquisa no motor de busca Google pelas palavras: *reprodução medicamente assistida em Portugal*, e *legislação portuguesa criopreservação oócitos e embriões*. Desta pesquisa foi possível recolher informação da legislação vigente sobre esta temática publicada em Diário da República.

Foram ainda consultadas referências bibliográficas de alguns artigos tendo sido incluída apenas 1 referência no trabalho final.

No final do trabalho foram reunidas 77 referências bibliográficas, dos quais 71 artigos científicos, 2 livros médicos disponíveis online e 4 websites de dados estatísticos e legislação. Das referências recolhidas a mais antiga é referente ao ano de 1998.

### **III. Discussão**

#### **3.1. Estratégias para a preservação da fertilidade**

##### **3.1.1. Indicações**

O potencial reprodutivo do doente oncológico é, como abordado anteriormente, diminuído por vários factores, quer sejam relacionados com a doença, com o tratamento anti-neoplásico, ou com factores intrínsecos do doente. De entre os meios disponíveis para aferir a indicação para realização de métodos de preservação do potencial fértil destaca-se o risco de infertilidade por tratamento citotóxico e/ou radioterapia (**Anexo 1**), que pode ser estratificado em 5 graus, consoante a sua probabilidade. É considerado risco elevado quando a probabilidade de falência ovárica permanente é acima de 70%, risco moderado entre 30 e 70% e baixo risco, quando é abaixo de 30%. Ainda a considerar o risco muito baixo/sem risco, quando a probabilidade é negligenciável e o risco desconhecido, quando não há dados suficientes<sup>[7, 9, 15]</sup>.

De acordo com as recomendações da Sociedade Portuguesa de Oncologia (SPO), apesar da estratificação de risco de infertilidade, todos os doentes devem ser informados dos efeitos da terapêutica no seu potencial reprodutivo e cada caso ser avaliado individualmente. Em suma, constituem indicações gerais para a preservação da fertilidade feminina:

- Idade inferior a 40 anos.
- Reserva ovárica adequada (avaliada por AFC, AMH ou outras).
- Projecto reprodutivo incompleto.
- Prognóstico favorável<sup>[15]</sup>.

##### **3.1.2. Técnicas**

À disposição temos 2 tipos de técnicas: as técnicas de protecção da fertilidade (como a ooforopexia e a utilização de agentes supressores do ovário), que visam impedir que o tratamento anti-neoplásico danifique os órgãos do sistema reprodutor e diminua o potencial reprodutivo; e as técnicas de preservação da fertilidade (como a criopreservação de oócitos e embriões, entre outros), que visam assegurar a fertilidade apesar do dano inevitável que ocorrerá após a realização do tratamento<sup>[15]</sup>.

### 3.1.2.1.Ooforopexia

Também denominado de transposição ovárica, é um procedimento cirúrgico, que visa a preservação do potencial fértil pela transferência do ovário para uma localização extra-pélvica, fora da área de abrangência da radiação <sup>[19]</sup>.

É um procedimento seguro e eficaz usado nos casos de tumores pélvicos (neoplasia intestinal ou génito-urinária), ou outras neoplasias que necessitem de radioterapia como forma de tratamento, e está associada a uma preservação da função ovárica entre os 65-90% <sup>[1, 20]</sup>. Habitualmente utiliza-se este método em tumores pélvicos que requerem irradiação em doses de 42-58 Gy (dose muito mais alta do que aquela que se descobriu ser causadora de falência ovárica – 8-20 Gy) <sup>[19, 21]</sup>.

Há várias modalidades de ooforopexia de acordo com o tipo de radiação, extensão da doença e localização tumoral, entre as quais: transposição intra e retroperitoneal, no músculo psoas ou atrás deste, nas goteiras paracólicas, transposição por agulha percutânea ou exteriorização para o tecido celular subcutâneo <sup>[20, 22]</sup>. Em relação a pacientes com Linfoma de Hodgkin, estudos demonstraram vantagens na transposição do ovário para uma posição superior, como por exemplo para as goteiras cólicas, quando comparados com uma transposição mediana do ovário para trás do útero (com ou sem protecção com placa de chumbo), que era a técnica que se realizava anteriormente <sup>[23]</sup>.

Esta técnica pode ser realizada por laparotomia ou laparoscopia, sendo a última mais vantajosa, visto não ser necessária a abertura da parede abdominal resultando em menos complicações pós-operatórias e menor estadia hospitalar <sup>[24, 25]</sup>.

As complicações descritas para esta técnica são: o risco de lesão ou torção ovárica (em 24% dos casos), a formação de quistos ováricos dolorosos e a possibilidade de translocação de metástases para o ovário e consequentemente para o novo local de implantação <sup>[1, 19, 26]</sup>.

Dos estudos realizados sobre esta técnica destacaram-se 3, relativos a pacientes com neoplasias variadas, submetidas a transposição ovárica e seguidas posteriormente em follow-up. Os resultados foram similares e apresentaram benefício na realização da técnica. Morice et al(2000), acompanharam 107 mulheres com cancro cervical durante 31 meses, e observaram preservação ovárica de 83% e ocorrência de gravidez espontânea em 3 casos. Como complicações destacaram o aparecimento de quistos ováricos (22 casos), metástases (1 caso) e obstrução intestinal (1 caso)<sup>[27]</sup>. Pharisa et al (2008), acompanharam 28 mulheres com cancro cervical durante 44,3 meses em que se

verificou preservação ovárica em 82,1%, sem nenhuma gravidez ou complicações reportadas [28]. Garrar et al (2011), acompanharam 12 pacientes (9 com Linfoma de Hodgkin e 3 com cancro do recto), em follow-up indeterminado, e verificaram 91,7% de preservação ovárica e a ocorrência de 3 casos de gravidez espontânea. Não foram descritas complicações [29].

Pela difusão da radiação, esta técnica nem sempre é eficaz, resultando muitas vezes em lesão ovárica de grau variável [23]. Este método não protege a paciente dos efeitos da quimioterapia ou em casos de radiação corporal total [30].

### **3.1.2.2. Agentes Supressores do Ovário**

São análogos da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), cujo mecanismo de acção visa a indução de um estado hormonal pré-púbere, pela diminuição da produção de FSH e hormona luteínica (LH), restringindo assim a lesão ovárica causada pela acção da quimioterapia [1, 31].

Os análogos da GnRH são péptidos sintéticos similares quimicamente à GnRH e podem ser de 2 tipos: agonistas, com uma semi-vida longa e que induzem a diminuição de produção de gonadotrofinas por enorme afinidade para os receptores; ou antagonistas, que têm uma curta duração e reduzem a produção de FSH e de LH por competição pelos receptores de GnRH [32].

Os mecanismos de acção destes fármacos não estão inteiramente compreendidos, no entanto, uma teoria sugerida tem que ver com a possibilidade de estes serem capazes de interromper o ciclo vicioso causado pela perda de folículos em maturação (que causam aumento de FSH), com consequente aumento da perda de reserva folicular por feedback positivo [14, 33]. Dos restantes mecanismos de acção propostos, destaca-se a possibilidade de diminuição da perfusão ovário-útero, pela diminuição dos níveis de estrogénio, que resulta numa menor exposição dos ovários aos agentes quimioterapêuticos [32, 33].

Apesar de teoricamente este método ser promissor, os estudos realizados até à data têm tido resultados discrepantes e os benefícios da utilização destes fármacos permanecem incertos [10, 13, 34, 35]. Um estudo realizado com 257 mulheres pré-menopáusicas com cancro de mama operável com receptores de estrogénio e progesterona (ER e PR) negativos, tratadas com ciclofosfamida em concomitância com um agonista do GnRH (Goserelina), revelou benefício reprodutivo (avaliado por presença de menstruação nos 6 meses subsequentes e valores de FSH em níveis pré-

menopáusicos), face ao tratamento quimioterapêutico isolado <sup>[36]</sup>. No entanto, outro estudo em que foram avaliadas 100 mulheres tratadas com o mesmo anti-neoplásico em associação com um análogo da GnRH (inicialmente com cetrotide e depois triptorelina até ao fim do ciclo de quimioterapia), demonstrou não haver benefício nesta associação, em relação ao grupo de controlo <sup>[37]</sup>.

O problema potencial deste tipo de terapêutica, essencialmente em pacientes com cancro de mama, é a possibilidade de uma diminuição do estrogénio poder transportar células malignas para um estado de repouso, tornando-as menos susceptíveis à quimioterapia <sup>[38]</sup>.

De acordo com as recomendações da Sociedade Portuguesa de Oncologia este método não deve ser considerado prioritário em relação a outros procedimentos de preservação da fertilidade, no entanto, pode ser considerado quando outras opções não forem possíveis, em situações de emergência, ou casos pontuais avaliados individualmente <sup>[15]</sup>.

### **3.1.2.3.Criopreservação de Embriões**

É uma técnica que já se encontra disponível desde 1980 e é amplamente utilizada em mulheres adultas e com um parceiro, ou nos casos em que há desejo de recorrer a um dador de esperma <sup>[8]</sup>. De acordo com um estudo americano, comparativamente a embriões doados, os embriões criopreservados apresentavam uma taxa de nascimentos vivos similar, na ordem dos 34-43%, com a transferência de 1 ou 2 embriões. Adicionalmente apresentavam uma taxa de gravidez (confirmada por ecografia) entre 45-53%, consoante a idade materna <sup>[39]</sup>.

Esta técnica tem por princípio a produção de oócitos maduros por estimulação ovárica através da administração de gonadotropinas (nomeadamente a FSH), que são posteriormente colhidos e fertilizados por fertilização *in vitro* (FIV) ou microinjecção citoplasmática de espermatozóides (ICSI), formando embriões que são criopreservados para ser utilizados após o final do tratamento oncológico <sup>[1, 16, 40]</sup>.

A estimulação ovárica convencional faz-se habitualmente no início da fase folicular do ciclo ovário (no início da menstruação), o que pode implicar uma espera de 2-6 semanas dependendo da fase em que a mulher se encontre, sendo que depois disso as gonadotrofinas levam entre 10-14 dias a alcançar o efeito multi-folicular desejado <sup>[4, 41, 42]</sup>. Esta demora no início do tratamento pode não ser aceitável em

determinadas pacientes. Nesse sentido foi proposto outro protocolo que visa a estimulação ovárica de início aleatório, que tem apresentado bons resultados <sup>[41]</sup>.

Outro problema que se observa na estimulação ovárica diz respeito ao aumento dos níveis séricos de estrogénio para valores suprafisiológicos (10-15 vezes acima do normal), o que pode representar um risco em pacientes com determinadas neoplasias hormono-sensíveis <sup>[14]</sup>. Para tentar reduzir este problema, foram propostos protocolos de utilização concomitante de tamoxifeno ou inibidores da aromatase para mitigar a actividade ou produção de estrogénio <sup>[42]</sup>.

O tamoxifeno actua por antagonismo competitivo nos receptores de estrogénio e interfere com o feedback negativo do eixo hipotálamo-hipófise, aumentando a libertação de GnRH e aumentando a produção de FSH estimulando o desenvolvimento folicular <sup>[41]</sup>. Embora o tamoxifeno não altere os níveis circulantes de estrogénio, o risco de recorrências a longo prazo não parecem aumentar, pelo seu efeito anti-estrogénico <sup>[43]</sup>.

A utilização de inibidores da aromatase, como o letrozol, tem efeito protector por supressão dos níveis de estrogénio plasmático por inibição competitiva da enzima aromatase, reduzindo assim o pico de estradiol <sup>[31, 44, 45]</sup>.

A principal desvantagem desta técnica prende-se com questões éticas abordadas adiante, nomeadamente a disposição dos embriões em caso de separação, morte ou de impossibilidade de utilização dos mesmos, pelo que esta não é a técnica mais aconselhada pela Sociedade Portuguesa de Oncologia <sup>[15]</sup>.

#### **3.1.2.4.Criopreservação de Oócitos Maduros**

Em pacientes mais jovens ou sem parceiro, em que a preservação de embriões não é um procedimento possível, a criopreservação de oócitos maduros pode ser a melhor opção.

Esta técnica implica que a mulher passe pelo mesmo processo de estimulação ovárica com recurso a gonadotrofinas realizado para a técnica anterior, sendo que os oócitos daí resultantes são criopreservados para uso posterior <sup>[14]</sup>. À semelhança do que é feito para a preservação de embriões, a estimulação hormonal pode ser realizada com recurso a co-administração de tamoxifeno ou inibidores da aromatase para atenuar os efeitos do pico de estrogénio <sup>[31, 46]</sup>.

A primeira criança nascida por recurso à preservação de oócitos nasceu em 1986, no entanto os resultados iniciais deste método mostravam taxas de sucesso bastante



inferiores à conservação de embriões. Isso deveu-se ao facto de o oócito ter grandes dimensões e alto teor em água tornando-o vulnerável à formação de cristais de gelo intracelulares, ruptura e penetração inadequada dos agentes crioprotectores, levando a lesão ou morte celular [38, 47]. A alteração do método de conservação para a vitrificação permitiu que se alcançassem resultados mais promissores, com taxas de sobrevivência na ordem dos 90% [48] e taxas de nascimentos vivos na ordem dos 5,7% por oócito preservado [49]. A vitrificação veio substituir o método anterior, por envolver uma exposição do oócito a quantidades superiores de crioprotector durante um período de tempo mais curto e pelo processo de conservação mais rápido, impedindo a formação de cristais de gelo [10, 50]. Estudos realizados mostram que a qualidade dos oócitos conservados por vitrificação parece ser similar à dos oócitos “frescos” [51, 52].

Estudos comparativos entre a vitrificação e o processo de conservação anterior (congelação lenta) revelaram vantagens significativas do primeiro em relação ao segundo [53, 54, 55].

Pelo endurecimento da zona pelúcida e consequente dificuldade na fecundação, é aconselhado o ICSI como técnica de fertilização a ser utilizada após o descongelamento do oócito [56].

Esta técnica é preferida à criopreservação de embriões, já que confere à mulher maior autonomia reprodutiva [15].

### **3.1.2.5. Criopreservação e Transplante de Tecido Ovário**

A criopreservação de tecido ovário é uma técnica experimental que pode ser útil em mulheres pré-púberes, em casos em que não é possível adiar o início do tratamento oncológico ou nos casos em que a estimulação ovárica está contra-indicada [10, 57]. Tem como objectivo a preservação de folículos primordiais dentro do córtex ovário, para posteriormente se proceder ao reimplante e resultar numa gravidez espontânea ou assistida medicamente [34].

Esta técnica é feita com recurso a biópsias de tecido ovário ou ooforectomia unilateral laparoscópica [10, 13] em que os fragmentos removidos são posteriormente criopreservados, descongelados depois do tratamento e reimplantados no local de origem de forma ortotópica (como enxerto no ovário remanescente, na fossa ovárica ou no ligamento largo) ou outros locais de forma heterotópica (no tecido subcutâneo do antebraço, no tecido subcutâneo do abdómen, na parede anterior do abdómen, numa bolsa criada abaixo do peritонеu ou no músculo *rectus abdominis*) [8, 58, 59].

A escolha do local de auto-transplante requer a consideração de determinados factores já que ambos têm vantagens e desvantagens. Em relação ao transplante ortotópico, este confere a possibilidade de uma gravidez espontânea, no entanto requer uma cirurgia abdominal com anestesia geral <sup>[58]</sup>. O transplante heterotópico é feito através de uma cirurgia minimamente invasiva, vantajoso em caso de aderências pélvicas, de distorção da anatomia pélvica ou de vascularização pobre após a radiação, e garante boa restauração da função endócrina, no entanto têm demonstrado maus resultados em termos de desenvolvimento folicular <sup>[58 - 61]</sup>.

Apesar de experimental este método apresenta já alguns resultados promissores <sup>[62 - 64]</sup>, necessitando, no entanto, de mais dados de segurança, já que a maior preocupação em relação a este método é a possibilidade de transplante de células malignas e promoção da recorrência da neoplasia <sup>[13, 31, 65]</sup>.

É contra-indicado em pacientes com cancro do ovário ou em mulheres com alto risco de desenvolver cancro do ovário (por exemplo as portadores dos genes BRCA 1 e 2) <sup>[48]</sup>.

### **3.1.2.6. Outras Técnicas**

#### **3.1.2.6.A. Maturação de Oócitos *in vitro***

Tem como princípio a recolha de oócitos imaturos de entre os folículos antrais, numa fase anterior à selecção e dominância num ciclo não estimulado, para serem posteriormente maturados *in vitro* <sup>[45, 66]</sup>. Podem ser recolhidos directamente do ovário *in situ* ou de tecido ovárico excisado anteriormente, e podem ser maturados antes da criopreservação ou após o processo de descongelamento <sup>[48]</sup>. Tem indicação em mulheres com risco de síndrome de hiperestimulação ovárica (ex: ovários poliquísticos), com neoplasias hormono-sensíveis, em raparigas pré-púberes, ou mulheres que não podem adiar o início da terapêutica anti-neoplásica <sup>[67, 68]</sup>.

Tem sido sugerido que os oócitos imaturos podem ser mais resistentes à lesão pelo frio devido ao seu menor volume celular e ausência de fuso acromático da metáfase, no entanto, a sua eficácia é ainda indeterminada, sendo necessários mais estudos neste sentido <sup>[45]</sup>.

### **3.1.2.6.B. Transplante Completo de Ovário**

O transplante de ovário e respectivo pedículo vascular é uma técnica que pode permitir a diminuição da perda de folículos primordiais que ocorre devido a isquemia, já que o transplante com anastomose permite uma revascularização imediata do córtex ovárico [69].

Os estudos em animais têm mostrado bons resultados, no entanto, em relação aos humanos, nenhum nascimento foi reportado por recurso a esta técnica, em parte devido à dificuldade de difusão dos crioprotectores, impedindo a viabilidade do ovário [58, 60].

### **3.1.2.6.C. Administração de Quimioterapia por Nanopartículas**

É uma técnica experimental que consiste na encapsulação de fármacos anti-neoplásicos dentro de uma nanopartícula. Esta partícula servirá posteriormente de veículo para o fármaco que irá entrar em contacto com as células neoplásicas [31, 70, 71].

Pelo reconhecimento de maior densidade vascular dos tumores sólidos e detecção de marcadores moleculares expressos na superfície tumoral, o transporte de fármacos por nanopartículas direcciona a administração farmacológica ao alvo terapêutico, melhorando a eficácia do tratamento e reduzindo os efeitos secundários associados, como por exemplo a perda de folículos primordiais por lesão ovárica [70].

As nanopartículas são desenhadas com características específicas para melhorar a solubilidade, evitar o reconhecimento pelo sistema fagocitário mononuclear, proteger os fármacos da degradação, aumentar o tempo de circulação sistémica, entre outras. Quanto aos materiais, podem ser constituídas por: lipossomas, polímeros, ligação a proteínas (Albumina), micelas, dendrímeros ou metais inertes (ouro e titânio) [70, 71].

Actualmente existem algumas associações de nanopartícula-fármaco aprovadas pela agência americana FDA e pela agência europeia de medicamentos (EMA) para uso clínico e uma série de outras associações em ensaios clínicos [70].

### **3.2. Desafios Éticos**

A utilização de técnicas de reprodução medicamente assistida apresenta por si só problemas éticos e, quando associados ao cancro e seu tratamento, esses problemas duplicam.

A notícia do diagnóstico de cancro representa um período de stress psicossocial em que muitas vezes o paciente não se encontra mentalmente capacitado para se debruçar sobre as suas opções reprodutivas. No entanto é fundamental saber quais são as suas expectativas relativamente a este tema e informá-lo acerca das opções disponíveis.

Em termos práticos, no entanto, esta informação não é muito bem realizada. Quer por limitação de conhecimento do oncologista acerca dos métodos disponíveis, quer por ser dada maior importância à doença e seu tratamento do que às consequências reprodutivas, o doente não chega muitas vezes a receber informação acerca dos efeitos dos tratamentos na sua vida reprodutiva ou da existência de procedimentos de preservação de fertilidade <sup>[72]</sup>. Um inquérito realizado pela Sociedade Portuguesa de Oncologia aos seus sócios concluiu que apesar de 97% dos inquiridos referir que deveria ser oferecida maior atenção à preservação da fertilidade em doentes oncológicos, cerca de 44% deles nunca tinha referenciado nenhum doente à Medicina de Reprodução, e 83.3% nunca tinha disponibilizado informação escrita acerca do tema ao doente <sup>[73]</sup>.

Outro problema diz respeito à execução de técnicas de preservação da fertilidade em menores de idade e a obtenção do consentimento informado. Este tema tem sido alvo de alguma controvérsia, pela validade da execução destas técnicas. Por um lado é argumentado que a preservação da fertilidade faz sentido porque salvaguarda a autonomia reprodutiva da criança e previne problemas não só reprodutivos como também psicossociais futuros mas por outro lado, existe a incapacidade de compreensão dos procedimentos por parte da criança e a possibilidade de submeter o menor a procedimentos potencialmente invasivos. Neste sentido, a evidência clara de benefício para o menor, o consentimento dos pais e a opinião do paciente (especialmente se pós-pubertário) devem ser sempre assegurados <sup>[72, 74, 75]</sup>.

Relativamente às mulheres submetidas a técnicas de preservação da reprodução, uma das maiores preocupações é a possibilidade de recorrência da neoplasia. Neste sentido o encurtamento da sua esperança de vida, torna os procedimentos eticamente desafiantes. Um dos argumentos contra é o facto de lesar psicologicamente a criança

que virá, deixando-a órfã de um dos pais numa idade precoce. Este argumento, no entanto, não é suficiente para ser impeditivo da realização destas técnicas <sup>[74]</sup>.

Em relação à criopreservação de embriões, um problema que se coloca é a disposição do material biológico em caso de divórcio ou separação. Neste caso a mulher não pode utilizar os embriões, dado que estes foram criados com recurso a gâmetas de ambos os intervenientes, não sendo ética a sua utilização apenas por uma das partes <sup>[45, 76]</sup>. Este ponto coloca problemas para a paciente que por impedimento legal e ético vê os seus esforços de preservação do potencial fértil frustrados.

Relativamente à reprodução póstuma, segundo a lei portuguesa, a inseminação artificial é proibida, no entanto a transferência de embriões é permitida desde que haja uma manifestação do desejo por escrito por parte do pai. Em caso de morte do elemento do sexo feminino, a transferência de embriões por recurso a gestação de substituição não é permitida <sup>[75, 76]</sup>.

#### IV. Conclusão

O diagnóstico de cancro é uma realidade crescente em crianças e mulheres em idade fértil, como tal é necessária uma actuação precoce em relação à preservação do potencial fértil destes pacientes. Um passo nesse sentido foi dado em Portugal com a publicação da resolução da Assembleia da República nº 111/2015 que recomenda: “o estabelecimento da obrigatoriedade de informação aos doentes a quem são prescritos determinados medicamentos ou tratamentos que interferem gravemente com a fertilidade, dos efeitos desses tratamentos (por exemplo quimioterapia), possibilitando a colheita prévia de gâmetas e a sua conservação, para posterior utilização, sobretudo em pacientes mais jovens” <sup>[76]</sup>, no entanto é necessário que mais seja feito para que sejam assegurados os interesses reprodutivos do doente com patologia oncológica.

De acordo com as recomendações da SPO e da ASCO, os métodos mais bem estabelecidos de preservação da fertilidade feminina são a criopreservação de embriões e de oócitos maduros, úteis quando a paciente é submetida a terapêutica sistémica com agentes quimioterapêuticos <sup>[77]</sup>. Como desvantagens destacam-se a necessidade de adiar os tratamentos pelo facto de serem submetidas a ciclos de estimulação ovárica e ser apenas possível em mulheres pós-púberes, com parceiro ou com desejo de recurso a doação de esperma (no caso da criopreservação de embriões). Se a paciente for submetida a radioterapia pode ser considerada a ooforopexia ou protecção das gónadas por material blindado (placas ou coletes de chumbo) se a anterior não for possível, para minimização dos efeitos nocivos da radiação.

No caso das jovens pré-púberes há outras opções em estudo como a criopreservação de tecido ovárico, transplante ovárico ou a maturação de oócitos *in vitro*, que são técnicas ainda consideradas experimentais e que precisam de mais dados que comprovem a sua eficácia e segurança (**Anexo 2**)<sup>[15]</sup>.

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Joaquim Nunes pela orientação, dedicação e compreensão durante a realização deste trabalho final de mestrado.

Ao Gabriel Calmeiro que sempre esteve a meu lado para me dar incentivo e encorajar nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, pelo esforço, sacrifício e as noites mal dormidas. Por me permitirem realizar o meu sonho. Sem eles estudar Medicina nunca teria sido possível.

À minha mãe, que inspirou a escolha deste tema ao ser um exemplo de coragem e de força, sendo ela própria uma sobrevivente de cancro de mama.

## Bibliografia

- [1] – Gunasheela, D; Gunasheela, S. (2014): “Strategies for fertility in young patients with cancer: A comprehensive Approach” – Indian Journal of surgical oncology, 5(1): 17-29.
- [2] – Reed, BG, Carr, BR. (2015): “The normal menstrual cycle and the control of ovulation”; In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. Endotext [Internet].
- [3] – Levine, J. (2012). In: Oncofertility Medical Practice: Clinical Issues and Implementation - Chapter 1: Gonadotoxicity of cancer therapies in pediatric and reproductive-age females, New York: Springer: 3-12.
- [4] – Jeruss, J.S; Woodruff, J.K. (2009): “Preservation of fertility in patients with cancer” – The New England Journal of Medicine, 360(9): 902-911.
- [5] – Barton, S.E; Najita, J.S; Ginsburg, E.S; Leisenring, W.M; Stovall, M; Weathers, R.E; Sklar, C.A; Robinson, L.L; Diller, L (2013); “Infertility, infertility treatment, and achievement of pregnancy in female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study Cohort”; The Lancet, 14(9): 873-881.
- [6] – Morgan, S; Anderson, RA; Gourley, C; Wallace, WH; Spears, N (2012): “How do chemotherapeutic agents damage the ovary”; Human Reproduction Update, 18(5): 525-535.
- [7] – Meirow, D; Biederman, H; Anderson, RA; Wallace, WHB (2010): “Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction”; Clinical Obstetrics and Gynecology, 53(4): 727-739.
- [8] – Lobo, R.A. (2005): “Potential options for preservation of fertility in Women”; The New England Journal of Medicine, 353(1): 64-73.
- [9] – Hyman, J.H.; Tulandi, T. (2013): “Fertility preservation options after gonadotoxic chemotherapy”; Clinical medicine insights: reproductive health, 25(7): 61-69.
- [10] – “Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies: a committee opinion” (2013) – The ethics committee of the American Society for Reproductive Medicine; Fertility and Sterility, 100(5): 1224-1230.
- [11] – Knopman, J.M; Papadopoulos, E.B; Grifo, J.A; Fino, M.E; Noyes, N (2010): “Surviving childhood and reproductive-age malignancy: effects on fertility and future parenthood”; The Lancet, 11(5): 490-498.
- [12] – Signorello, LB; Mulvihill, JJ; Green, DM; Munro, HM et al (2010): “Stillbirth and neonatal death in relation to radiation exposure before conception: a retrospective cohort study”; The Lancet, 376(9741): 624-630.



- [13] – Skaznik-Wikiel, M.E.; Gilbert, S.B.; Meacham, R.B.; Kondapalli, L.A. (2015): “Fertility preservation options for men and women with cancer”; Reviews in Urology, 17(4): 211-217.
- [14] – Hulvat, M.C.; Jeruss, J.S. (2009): “Maintaining fertility in young women with breast cancer”; Current treatment options in Oncology Journal, 10(5-6): 308-317.
- [15] – Santos, ATA, et al (2016): “Recomendações para a preservação do potencial reprodutivo no doente oncológico”; Revista Portuguesa de Oncologia; 2(1): 5-24.
- [16] – Muñoz, M; Santaballa, A; Seguí, MA; et al (2016): “SEOM Clinical Guideline of Fertility Preservation and Reproduction in Cancer Patients”; Clinical and Translational Oncology, 18(2): 1229-1236.
- [17] – “Portugal – Doenças Oncológicas em Números – 2015” – Programa Nacional para as doenças oncológicas; Direcção Geral de Saúde, 2016 [online], disponível em: <https://www.dgs.pt/em-destaque/portugal-doencas-oncologicas-em-numeros-201511.aspx>.
- [18] – International Agent for Research on Cancer [online], disponível em: [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr).
- [19] – Irtan, S; Orbach, D; Helfre, S; Sarnacki, S (2013): “Ovarian transposition in prepubescent and adolescent girls with cancer”, The Lancet, 14(13): 601-608.
- [20] – Gubbala, K; Laios, A; Gallos, I; Pathiraja, P; Haldar, K; Ind, T (2014): “Outcomes of ovarian transposition in gynaecological cancers; a systematic review and meta-analysis”; Journal of Ovarian Research, 7(69): 1-10.
- [21] – Molpus, K.L; Wedergren, J.S; Carlson, M.A (2003): “Robotically Assisted Endoscopic Ovarian transposition”; Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons, 7(1): 59-62.
- [22] – Barahmeh, S; Mahmoud, AM; Badran, O; Masarweh, M et al (2013): “Ovarian Transposition before pelvic irradiation: Indications and functional outcome”; The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 39(11): 1533-1537.
- [23] – Farber, LA; Ames, JW; Rush, S; Gal, D (2005): “Laparoscopic ovarian transposition to preserve ovarian function before pelvic radiation and chemotherapy in a young patient with rectal cancer”; Medscape General Medicine, 7(1): 66.
- [24] – Classe, JM; Mahé, M; Moreau, P; Rapp, MJ; Maisonneuve, H; et al (1998): “Ovarian transposition by laparoscopy before radiotherapy in the treatment of hodgkin’s disease”; Cancer – American Cancer Society, 83(7): 1420-1424.

- [25] – Mossa, B; Schimberni, M; Di Benedetto, L; Mossa, S (2015): “Ovarian Transposition in Young Women and Fertility Sparing”; European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 19(18): 3418-3425.
- [26] – Tulandi, T; Al-Took, S (1998): “Laparoscopic ovarian suspension before irradiation.” Fertility & Sterility, 70: 381-383.
- [27] – Morice, P; Juncker, L; Rey, A, El-Hassan, J; Haie-Meder, C; Castaigne, D. (2000): “Ovarian transposition for patients with cervical carcinoma treated by radiosurgical combination”; Fertility & Sterility; 74(4): 743-748.
- [28] – Pharisa, J; Martínez-Román, S; Martínez-Zamora, MA et al (2008): “Laparoscopic ovarian transposition in patients with early cervical cancer”; International Journal of Gynecologic Cancer, 18(3): 584-590.
- [29] – Gareer, W; Gad, Z; Gareer, H. (2011): “Needle oophoropexy: a new simple technique for ovarian transposition prior to pelvic irradiation”; Surgical Endoscopy, 25(7): 2241-2246.
- [30] – Linkeviciute, A; Boniolo, G; Chiavari, L; Peccatori, FA (2014): “Fertility Preservation in Cancer Patients: the global Framework”; Cancer Treatment Reviews, 40(88): 1019-1027.
- [31] – De Vos, M; Smits, J; Woodruff, T.K. (2014): “Fertility preservation in women with cancer”; The Lancet, 384(9950): 1302-1310.
- [32] – Chen, H; Li, J; Cui, T; Hu, L. (2011): “Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy induced premature ovarian failure in premenopausal women (Review)”; Cochrane Database of Systematic Reviews, nr. 11, CD008018.
- [33] – Blumenfeld, Z (2007): “How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryos, oocytes or ovaries”; The Oncologist, 12(9): 1044-1054.
- [34] – Almeida, J.P.M. et al (2013): “Gravidez após cancro da mama: sonho ou realidade?”; Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa, 7(1): 36-41.
- [35] – Clowse, MEB; Behera, MA; Anders CK; et al (2009): “Ovarian preservation by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis”. Journal of Women's Health, 18(3): 311-319.
- [36] – Moore, HCF; et al (2015): “Goserelin for Ovarian Protection during Breast-cancer adjuvant chemotherapy”; The New England Journal of Medicine, 372(10): 923-932.

- [37] – Elgindy, EA; El-Haieg, DO; Khorshid, MO; et al (2013): “Gonadotrophin suppression to prevent chemotherapy induced ovarian damage: a randomized controlled trial”; Obstetrics & Gynecology, 121(1): 178-186.
- [38] – Roberts, J.; Ronn, R.; Tallon, N.; Holzer, H. (2015): “Fertility preservation in reproductive-age women facing gonadotoxic treatments”; Current Oncology, 22(4): 294-299.
- [39] – “Society for Assisted Reproductive Technology. IVF Success Rates”; [online], acessado a 14 de Abril de 2017, disponível em: [https://www.sartcorsonline.com/rptCSR\\_PublicMultiYear.aspx?ClinicPKID=0](https://www.sartcorsonline.com/rptCSR_PublicMultiYear.aspx?ClinicPKID=0).
- [40] – Benedict, C; Thom, B; Kelvin, JF (2016): “Fertility Preservation and cancer: challenges for adolescent and young adult patients”; Current Opinion in Supportive and Palliative Care, 10(1): 87-94.
- [41] – Cakmak, H; Rosen, MP; et al (2015): “Random-start ovarian stimulation in patients with cancer”; Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 27(3): 215-221.
- [42] – Muñoz, E; González, N; Muñoz, L (2015): “Ovarian stimulation in patients with breast cancer”; ecancermedicalscience, 9(504): 1-9.
- [43] – Meirow, D; Raanani, H; et al (2014): “Tamoxifen co-administration during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization in breast cancer patients increases safety of fertility-preservation treatment strategies”; Fertility & Sterility, 102(2): 488-495.
- [44] – Oktay, K; Hourvitz, A; Oktem, O; et al (2006): “Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy”; Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 91(10): 3885-3890.
- [45] – Bedoschi, G; Oktay, K; et al (2014): “Current approach to fertility preservation by embryo cryopreservation”; Fertility & Sterility, 99(6): 1496-1502.
- [46] – Silva, F; Pinelo, S; Pires, I; Felgueira, E (2015): “Preservação da fertilidade feminina – novos desafios”, Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa, 8(2): 154-157.
- [47] – “Oocyte Cryopreservation” (2014), Committee Opinion of The American College of Obstetricians and Gynecologists, 584.
- [48] – Kim, S; Kim, SK; Lee, JR; Woodruff, TK (2016): “Toward precision medicine for preserving fertility in cancer patients: existing and emerging fertility preservation options for women”; Journal of Gynecologic Oncology, 27(2): 1-18.

- [49] – Donnez, J; Dolmans, MM (2013): “Fertility Preservation in Women”; Nature Reviews Endocrinology, 9(12): 1-15.
- [50] – Schattman, G.L. (2015): “Cryopreservation of Oocytes” – The New England Journal of Medicine, 373(18): 1755-1760.
- [51] – Trokoudes, KM; Pavlides, C; Zhang, X (2011): “Comparison outcome of fresh and vitrified donor oocytes in na egg-sharing donation program”; Fertility & Sterility, 95(6): 1996-2000.
- [52] – “Mature Oocyte Cryopreservation: a guideline - The Practice Committes of the American Society of Reproductive Medicine and The Society for Assisted Reproductive Technology” (2013); Fertility & Sterility, 99(1): 37-43.
- [53] – Glujovsky, D; Riestra, B; Sueldo, C; Fisz bajn, G; Repping, S; Nodar, F; Papier, S; Ciapponi, A (2014): “Vitrification versus slow freezing for women undergoing oocyte cryopreservation (Review)”, Cochrane Database of Systematic Reviews, nr. 9, CD010047.
- [54] – Nagy, ZP; Anderson, RE; Feinberg, EC et al (2017): “The Human Oocyte Preservation Experience (HOPE) Registry: evaluantion of cryopreservation techniques and oocyte source on outcomes”; Reproductive Biology and Endocrinology, 15(10): 1-10.
- [55] – Rienzi, L; Gracia, C; Maggiulli, R; et al (2017): “Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance”; Human Reproduction Update, 23(1): 1-17.
- [56] – Argyle, CE; Harper, JC; Davies, MC (2016): “Oocyte cryopreservation: where are we now?”; Human Reproduction Update, 22(4): 440-449.
- [57] – Zapardiel, I; Cruz, M; Diestro, MD; Requena, A; Garcia-Velasco, JÁ (2016): “Assisted reproductive techniques after fertility-sparing treatments in gynaecological cancers”; Human Reproduction Update; 22(3): 1-25.
- [58] – Ladanyi, C; Mor, A; Christianson, MS; Dhillon, N; Segars, JH (2017): “Recent advances in the field of ovarian tissue cryopreservation and opportunities for research”; Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 34(6): 709-722.
- [59] – Sonmezer, M; Oktay, K (2010): “Orthotopic and Heterotopic Ovarian Tissue Transplantation”; Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 24(1): 113-126.

- [60] – Demeestere, I; Simon, P; Emiliani, S; Delbaere, A; Englert, Y (2009): “Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation; Human Reproduction Update, 15(6): 649-665.
- [61] – Donnez, J; Dolmans, MM (2014): “Transplantation of ovarian tissue”; Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology, 28(8): 1188-1197.
- [62] – Burmeister, L. et al (2013): “First Australian pregnancy after ovarian tissue cryopreservation and subsequent autotransplantation”; The Medical Journal of Australia, 198(3): 158-159.
- [63] – Jensen, A.K; Kristensen, S.G; Macklon, K.T; Jeppesen, J.V; Fedder, J; Ernst, E; Andersen, C.Y (2015): “Outcomes of transplantations of cryopreserved ovarian tissue to 41 women in Denmark”, Human Reproduction: Oxford Journals, 30(12): 1-8.
- [64] – Donnez, J; Dolmans, M.M; Demylle, D; Jadoul, P; Pirard, C; Squifflet, J; Martinez-Madrid, B; Van Langendonck, A (2004): “Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue”, The Lancet, 364(9443): 1405-1410.
- [65] – Feichtinger, M; Rodriguez-Wallberg, KA (2016): “Fertility preservation in women with cervical, endometrial or ovarian cancers”; Gynecologic Oncology Research and Practice; 3(8): 1-13.
- [66] – Coticchio, G; Dal-Canto, M; Guglielmo, MC; Mignini-Renzini, M; Fadini, R (2012): “Human oocyte maturation in vitro”; The International Journal of Developmental Biology, 56(12): 909-918.
- [67] – Chang, EM; Song, HS; Lee, DR; Lee, WS; Yoon, TK (2014): “In vitro maturation of human oocytes: its role in fertility treatment and new possibilities”; Clinical and Experimental Reproductive Medicine, 41(2): 41-46.
- [68] – Nogueira, D; Sadeu, JC; Montagut, J (2012): “In vitro oocyte maturation: current status”; Seminars in Reproductive Medicine, 30(3): 199-213.
- [69] – David, A; Green, LJ; Shikanov, A (2017): “Fertility Preservation in 2016: Where are we?”; Seminars in Reproductive Medicine, 35(2): 160-166.
- [70] – Nguyen-Ngoc, T; Raymond, E (2015): “Reinvention of chemotherapy: drug conjugates and nanoparticles”; Current Opinion in Oncology, 27(3): 232-242.
- [71] – Glasgow, MDK; Chougule, MB (2015): “Recent developments in active tumor targeted multifunctional nanoparticles for combination chemotherapy in cancer treatment and imaging”; Journal of Biomedical Nanotechnology, 11(11): 1859-1898.

- [72] – “Fertility preservation and reproduction in cancer patients – The Ethics Committee of the American Society of Reproductive Medicine” (2005); Fertility & Sterility, 83(6): 1622-1628.
- [73] – Martins, M; Mesquita-Guimarães, J. (2016): “Preservação da fertilidade em doentes oncológicos submetidos a terapêutica gonadotóxica”; Revista Portuguesa de Oncologia, 20(1): 30-39.
- [74] – Patrizio, P; Caplan, AL (2010): “Ethical Issues Surrounding Fertility Preservation in Cancer Patients”; Clinical Obstetrics and Gynecology, 53(4): 717-726.
- [75] – “Taskforce 7: Ethical considerations for the cryopreservation of gametes and reproductive tissues for self use” (2004); The ESHRE Task Force on Ethics and Law, 19(2): 460-462.
- [76] – Diário da República [online], acedido a 2/4/2017 e disponível em: <https://dre.pt/>.
- [77] – Loren, AW; Mangu, PB; Beck, LN et al (2013): “Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update”; Journal of Clinical Oncology, 31(19): 2500-2510.

**Anexo 1:** Categorização do risco de amenorreia em mulheres tratadas com anti-neoplásicos e/ou radioterapia.

Nível de risco	Protocolo de tratamento	Factores relacionado com o doente e a dose	Indicações terapêuticas habituais	Considerações no aconselhamento reprodutivo
<b>Risco elevado</b> Mais de 70% das mulheres desenvolve amenorreia após tratamento	Qualquer agente alquilante (ex: bussulfano, carmustina, ciclofosfamida, ifosfamida, lomustina, melfalano) + irradiação corporal total		Preparação para transplante de células estaminais hematopoiéticas em leucemias, linfomas, mielomas, sarcoma de Ewing, neuroblastoma, coriocarcinoma	Quaisquer tratamentos que incluam doses elevadas de agentes alquilantes e/ou irradiação do abdómen, pélvis ou eixo hipotálamo-hipófise apresentam o nível mais elevado de risco de impacto gonadal e amenorreia imediata. As doentes devem ser aconselhadas sobre a preservação da fertilidade antes de iniciar tratamento.
	Qualquer agente alquilante + irradiação pélvica		Sarcomas, tumores do ovário	
	Ciclofosfamida total	5g/m <sup>2</sup> em mulheres com idade > 40 anos. 7,5g/m <sup>2</sup> em mulheres com idade < 20 anos.	Vários tipos: cancro de mama, linfoma não-Hodgkin, preparação para transplante de células estaminais hematopoiéticas	
	Protocolos que incluam procarbazina: MOPP BEACOPP	> 3 ciclos > 6 ciclos	Linfoma de Hodgkin	
	Protocolos que incluam temozolomida ou carmustina + irradiação craniana		Tumores do encéfalo	
	Doses totais de irradiação abdominal ou pélvica	> 6 Gy em mulheres adultas > 10 Gy em raparigas pós-púberes > 15 Gy em raparigas pré-púberes	Tumor de Wilms, neuroblastoma, sarcomas, linfoma de Hodgkin, tumores do ovário.	
	Doses de irradiação corporal total		Transplante de células estaminais hematopoiéticas	
	Irradiação craniana	40 Gy	Tumores do encéfalo	

<u>Nível de risco</u>	<u>Protocolo de tratamento</u>	<u>Factores relacionado com o doente e a dose</u>	<u>Indicações terapêuticas habituais</u>	<u>Considerações no aconselhamento reproductivo</u>
<b>Risco moderado</b> Cerca de 30 a 70% das mulheres desenvolve amenorreia após tratamento.	Ciclofosfamida total	5mg/m <sup>2</sup> em mulheres de idade entre 30 e 40 anos.	Vários tipos de cancro, cancro da mama	Níveis mais reduzidos de agentes alquilantes e/ou irradiação abdominal, pélvica ou do eixo hipotálamo-hipófise diminuem o risco de amenorreia imediata, mas não eliminam o risco de lesão gonadal. As doentes devem ser aconselhadas sobre a prevenção da fertilidade antes de iniciar tratamento.
	Protocolo AC (Doxorrubicina e Ciclofosfamida) para cancro da mama	4 ciclos + Paclitaxel ou Docetaxel em mulheres de idade < 40 anos.	Cancro de mama	
	Protocolo FOLFOX4		Cancro do cólon	
	Protocolos que incluam cisplatina		Cancro do colo do útero	
	Irradiação abdominal ou pélvica	10-15 Gy em raparigas pré-púberes. 5-10 Gy em raparigas pós-púberes.	Tumor de Wilms, neuroblastoma, tumores da espinal medula, tumores cerebrais, recidiva de leucemia linfoblástica aguda ou de linfoma não-Hodgkin.	
<b>Risco baixo</b> Menos de 30% das mulheres desenvolve amenorreia após tratamento.	Protocolos que incluam agentes não-alkilantes (ex: ABVD, CHOP, COP, protocolos multifármaco para leucemia)		Linfoma Hodgkin, linfoma não-hodgkin, leucemia	É pouco provável que estes tratamentos provoquem amenorreia imediata nas doses normalmente utilizadas; no entanto, as doentes devem ser aconselhadas relativamente ao risco de menopausa precoce. As doentes poderão pretender considerar preservação da fertilidade antes ou depois do tratamento.
	Protocolos para cancro da mama que incluam ciclofosfamida (ex: CMF, FEC ou FAC)	Mulheres de idade < 30 anos.	Cancro de mama	
	Antraciclina + Citarabina		Leucemia mieloblástica aguda	
<b>Risco muito baixo/sem risco</b> <b>Risco negligenciável; sem efeito na função menstrual</b>	Protocolos multifármacos que incluam vincristina		Leucemia, linfoma, cancro de mama e cancro do pulmão	
	Iodo radioactivo		Tumores da tiróide	



<u>Nível de risco</u>	<u>Protocolo de tratamento</u>	<u>Factores relacionado com o doente e a dose</u>	<u>Indicações terapêuticas habituais</u>	<u>Considerações no aconselhamento reproductivo</u>
<b>Risco desconhecido</b>	Anticorpos monoclonais (ex: bevacizumab, cetuximab, trastuzumab)		Cancro do cólon, cancro de células não-pequenas do pulmão, cancro da cabeça e pescoço, cancro de mama.	As doentes devem ser informadas da inexistência de dados conclusivos sobre os efeitos reproductivos destes fármacos; devem ser discutidas as opções de preservação da fertilidade.
	Inibidores das tirosinacinas (ex: erlotinib, imatinib)		Cancro de células não-pequenas do pulmão, pancreático Leucemia mielóide crónica, GIST	

In: Sociedade Portuguesa de oncologia, 2016.

**Anexo 2:** Algoritmo representativo das opções de preservação da fertilidade feminina.

